DOI:10.11931/guihaia.gxzw201807018

植物激素和接种方式对广西金线莲壮苗生根的影响

付传明,冼康华,苏江,何金祥,黄宁珍* (广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所,广西桂林 541006)

摘 要:以广西野生金线莲无菌播种离体茎段为材料,采用单因素对比试验,研究植物激素(NAA、IBA、6-BA、 GA_3 、KT、ZT、TDZ、2-IP)以及接种方式(竖直接种和水平接种)对壮苗生根培养的影响。结果表明,与对照相比,生长素有利于壮苗生根,NAA 的效果优于 IBA;细胞分裂素对壮苗生根的效果依次为 6-BA>TDZ>KT=ZT>2-IP>CK,其中 6-BA 诱导平均株高 8.4 cm,3.6 条根,茎粗为 2.84 mm,植株生长健壮,诱导效果最好;赤霉素 GA_3 诱导出的植株高且直,但植株细弱,且抑制根系生长,不利于壮苗生根培养;在激素组合 6-BA 0.5 mg L^{-1} 、NAA1.0 mg L^{-1} 处理中,组培苗生长健壮且根数量较多,效果最佳;水平接种能诱导出更多的根系,且便于接种操作,可以节省接种时间。因此,确定广西金线莲最适宜的壮苗生根培养基配方为 1/2MS+6-BA 0.5 mg L^{-1} +NAA 1.0 mg L^{-1} +香蕉泥 100 g L^{-1} +AC(活性炭) 1.0 g L^{-1} +蔗糖 20 g L^{-1} ,最佳接种方式为水平接种。

关键词: 植物激素,接种方式,广西金线莲,组培苗,壮苗生根

中图分类号: S682 文献标识码: A

Effect of phytohormone and inoculation method on cultivating strong seedling and inducing root of Guangxi Anoectochilus roxburghii

Fu Chuanming, Xian Kanghua, Su Jiang, He Jinxiang, Huang Ningzhen*

(Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, Guangxi, China)

Abstract: Selecting stem segmengs of the wild Guangxi *Anoectochilus roxburghii* as the study object, single factor comparison was carried out to determine the effects of phytohormone (NAA).

基金项目: 广西科技攻关计划(桂科攻 1598006-3-10); 广西自然科学基金(2014GXNSFBA118089); 广西植物研究所基本业务费项目(桂植业 13008)[Supported by Science and Technology Program of Guangxi (1598006-3-10); Natural Science Foundation of Guangxi(2014GXNSFBA118089); Fundamental Research Fund of Guangxi Institute of Botany(13008)]。

作者简介: 付传明(1980-), 男, 湖北公安人, 学士, 副研究员, 主要从事植物生物技术和珍稀濒危植物保育研究工作, (E-mail) 470196422@qq.com。

^{*}**通信作者:** 黄宁珍,学士,研究员,主要从事植物保育研究,(E-mail)1499533768@qq.com。

IBA、6-BA、GA₃、KT、ZT、TDZ、2-IP) and inoculation method(inoculated vertically and inoculated horizontally) on cultivating strong seedling and inducing root. The results showed that the NAA was better on cultivating strong seedling and inducing root than IBA and control treatment. And the effects of cytokinins were showed as 6-BA >TDZ>KT=ZT> 2-ip >CK. The average height of seedlings in 6-BA treatment is 8.4 cm, the average root number is 3.6, the stem diameter is 2.84 mm, all seedlings grown vigorously, The gibberellin GA₃ could induced seedlings tall and straight, but it can not make seedling strong and it inhibited the growth of roots. The combination of 6-BA 0.5 mg L⁻¹ and NAA 1.0 mg L⁻¹ generated a good effect, which could induce strong seedlings and numerous roots. Inoculated horizontally could induce numerous roots, and it was convenient for operation and saved time of inoculation. Therefore, during the strong plant culture and root inducing of Guangxi *Anoectochilus roxburghii*, the optimum medium was 1/2MS+6-BA 0.5 mg L⁻¹ +NAA 1.0 mg L⁻¹+banana mud 100 g L⁻¹+ AC 1.0 g L⁻¹+ sugar 20 g L⁻¹, and the best inoculating method was inoculated horizontally.

Keywords: phytohormone, inoculation method, Guangxi *Anoectochilus roxburghii*, in *vitro* shoots, cultivating strong seedling and inducing root

金线莲(Anoectochilus roxburghii)属兰科开唇兰属的珍稀名贵药用和观赏植物,在我国主要分布于福建、云南、广西、广东和江西等省区。作为我国传统的珍贵药材(钟岑生,1997;罗晓青等,2011),金线莲素有"神药""金草""药王""乌人参"等美称,全草均可入药,在民间对治疗急慢性肝炎、高血脂、糖尿病等多种重大疾病均有疗效。金线莲除用作中药材外,还大量用于煲汤和制茶,在日本、台湾已开展了金线莲药用多糖提取加工,且产业化达到一定的规模,由此可见,金线莲拥有非常好的市场前景。

广西是我国野生金线莲的原生主产地之一,产自广西的金线莲原生居群外形优美、药用成分含量高,是优质的种质资源(陈裕等,1994;孔祥海,2001)。但由于金线莲生长习性独特,加上人为肆意采挖,使其所面临的资源枯竭问题日渐突出。

通过组培工厂化繁育金线莲种苗进行移栽种植,已成为金线莲人工种植的发展趋势,其中壮苗生根培养是组培苗移栽成活的关键阶段,在金线莲工厂化繁育种苗过程中尤为重要。目前关于金线莲组培繁育已有较多研究报导,通常以单株芽苗为壮苗生根培养的接种材料,采用竖直接种的方式,使用的植物激素以生长素类物质为主,尽管也能快速诱导植株生根并获得较高的根系诱导率,但仍存在植株细弱不健壮,主根系不发达等问题(韩晓红等,2012;王丽芳,2012;王雅英等,2005)。针对这些问题,本实验在前期开展广西金线莲无菌播种

培养的基础上(付传明等,2018),选取离体茎段为试验材料,从接种方式和培养基激素种类浓度配比方面对壮苗生根进一步优化,确定出最佳的接种方式及培养基配方,旨在为广西金线莲大规模工厂化育苗提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

广西金线莲野生植株引自广西桂林、贺州、柳州等地区。引种到广西桂林的兰花良种培育中心种质圃内,进行人工授粉和无菌播种培养,选取粗细基本一致、高 5~7 cm、具 3~4 节的离体试管苗,去掉叶片和顶芽后,剪成 1.5~2.5 cm 长的带 1 个节的茎段为供试材料。

所用植物激素 IBA (Indole-3-Butytric acid)、NAA (Naphthalene acetic acid)、6-BA (6-benzylaminopurine)、 ZT (6-Furfurylaminopurine)、 TDZ (Thidiazuron)、 2-IP [6 (Δ isopenylamino) purine]、KT (kinetin)、GA₃ (Gibberellin A3)均为分析纯,购买于上海 sigma 公司或国药集团化学试剂有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 不同浓度和种类植物激素配比设置

将茎段材料分别接种到固定的基准培养基 1/2MS+香蕉汁 100 g L^{-1} +AC(活性炭) 1.0 g L^{-1} +蔗糖 2 g L^{-1} 上,添加不同种类和浓度植物激素的壮苗生根培养基中。设计的 4 个对比试验如下:①添加不同浓度的 NAA(0, 0.5、1.0、1.5 mg L^{-1})和 IBA(0、0.5、1.0、1.5 mg L^{-1}),比较生长素种类对壮苗生根的影响,筛选出较适宜的生长素种类。②通过预实验,已确定了各种细胞分裂素物质的适用浓度范围。因此,本试验选择 5 种细胞分裂素及适用浓度 6-BA(1.0 mg L^{-1})、TDZ(0.5 mg L^{-1})、KT(1.0 mg L^{-1})、ZT(0.5 mg L^{-1})、2-IP(0.5 mg L^{-1})进行对比,筛选确定出最适宜的细胞分裂素种类。③添加不同浓度的赤霉素 GA_3 (0、0.2、0.5、1.0 mg L^{-1}),比较不同浓度 GA_3 对壮苗生根的影响。④将筛选出的较适宜生长素 NAA(浓度设为 0、0.5、1.0、1.5 mg L^{-1})与细胞分裂素 6-BA(浓度设为 0、0.2、0.5、1.0、1.5 mg L^{-1})与细胞分裂素 10、10、10、11。每个处理接种 10 瓶,每瓶接种 100 个茎段材料,定期观察并记录根系和腋芽发生过程,培养 100 后统计结果。

1.2.2 接种方式的选择与处理

在超净工作台内,接种操作时选择竖直接种(按植株生长方向将节以下部分茎秆竖直插入培养基内)与水平接种(将茎段平铺在培养基表面)2种方式,比较分析不同接种方式对广西金线莲壮苗生根的影响。

1.2.3 培养基的配置和培养环境

根据前期试验筛选的结果,本试验所用培养基均以 1/2MS 为基本培养基,附加香蕉汁 100 g L^{-1} (去掉皮后放入榨汁机内加水打匀成汁),活性炭 1.0 g L^{-1} ,蔗糖 20 g L^{-1} ,琼脂粉 3.5 g L^{-1} ,pH 值调节至 5.8,分装后于 121 °C、105 Pa条件下灭菌 25 min,待培养基冷却后进行试验,在温度 $25\pm3 \text{ °C}$ 、光照强度 $20~30 \text{ }\mu\text{mol·m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、光照时间 12 h d^{-1} 的条件下培养。

1.3 结果观测及数据处理

株高:将组培苗从养瓶中取出,用直尺量取每株苗的株高,计算平均高度。

根数及根长:将组培苗用清水洗净培养基后,数每株苗的根条数,包括节上的气生根和基部的根,并用直尺量取每条根的长度,然后计算平均根数和平均根长。

生根率=(具有根系的植株数/植株总数)×100%。

数据分析采用 SPSS 20 软件进行单因素的方差分析。

2 结果与分析

2.1 生长素种类对广西金线莲壮苗生根培养的影响

广西金线莲离体茎段接种到含不同浓度 NAA 和 IBA 的基准培养基上,接种 10 d 后,可见节部开始萌动突起,形成乳白色颗粒状气生根原基,随后逐渐伸长成为气生根。同时节上腋芽原基开始萌发形成芽尖,并逐渐向上生长形成具茎、叶、节(下部节每节具 1 气生根)、根(包括气生根和基部根)的完整植株。

培养至 90 d 时的结果见下表 1,由表 1 可知,金线莲在各培养基上均能诱导腋芽生长和生根,生根率达到 100%。在株高和根数量方面,NAA 处理的根数最多,优于 IBA 和对照处理,其中 NAA 1.0 mg L^{-1} 处理诱导的根多且较长,平均根数为 5.7,植株株高最高,达 7.7 cm,植株生长健壮。因此,在使用生长素时,选择 NAA 较好。

表 1 NAA、IBA 对广西金线莲壮苗生根的影响

Table 1 Effects of NAA and IBA on cultivating strong seedling and inducing root of *Anoectochilus*

Toxonight					
种类	浓度	根数	株高	生根率	
作失 Types	Concentration	নাম ক্স Average root number	Average height of plant	Rooting rate	
Types	$(mg L^{-1})$		(cm)	(%)	

CK	0	3.3a	6.6a	100
	0.5	5.1b	7.4ac	100
NAA	1.0	5.7b	7.7bc	100
	1.5	5.0b	7.1ac	100
	0.5	3.7a	7.5ac	100
IBA	1.0	4.3a	7.3ac	100
	1.5	5.0b	6.7a	100

注:表中同列不同字母表示差异显著(P<0.05)。下同。

Note: Different lowercase letters show significant difference at the 0.05 level in the same column. The same below.

2.2 细胞分裂素对广西金线莲壮苗生根培养的影响

在基准培养基上添加不同种类的细胞分裂素,均使用前期实验确定的适用浓度,诱导广西金线莲壮苗生根培养结果见表 2 和图 1。由表 2 和图 1 可知,6-BA 培养基上的壮苗生根培养效果最好,植株生长健壮,平均株高达 8.4 cm 为最高,茎粗 2.84 mm 也为最粗; TDZ培养基株高一般,平均为 7.5 cm,但平均 3.9 条根为最多,且茎粗 (2.62 mm)仅次于 6-BA; KT 和 ZT 培养基上植株的株高、根数及茎粗居中,植株相对较直;2-IP 培养基上根数和株高均一般,仅高于对照处理。因此,综合比较植株生根和健壮情况,使用细胞分裂素的诱导培养排列顺序为 6-BA>TDZ>KT=ZT>2-IP>CK,以 6-BA 为最好。

种类 Types	浓度 Concentration (mg L ⁻¹)	根数 Average root number	株高 Average height of plant (cm)	茎粗 Stem diameter (mm)	生根率 Rooting rate (%)
CK	_	3.1a	6.7a	2.24a	100
6-BA	1.0	3.6a	8.4b	2.84b	100
KT	1.0	3.0a	8.0b	2.49a	100
ZT	0.5	3.3a	8.2b	2.48a	100
TDZ	0.5	3.9a	7.5a	2.62b	100
2-IP	0.5	3.3a	7.2a	2.51a	100



图 1 添加不同细胞分裂素培养广西金线莲壮苗生根生长情况 Fig. 1 Cultivating strong seedling and inducing root in the medium with different cytokinins of *Anoectochilus roxburghii*

2.3 不同浓度赤霉素对广西金线莲壮苗生根培养的影响

在基准培养基上,添加不同浓度的赤霉素 GA_3 ,诱导广西金线莲壮苗生根培养结果见下表 3 和图 2。由表 3 和图 2 可以看出,添加赤霉素 GA_3 培养基上植株茎秆较直,茎节较长,株高和茎节长显著高于对照(P<0.05),但茎粗和生根率却明显不如对照(基准培养基),且随着 GA_3 使用浓度的升高,茎粗和生根率均下降,植株叶片变小,色嫩绿,不如对照健壮,表明赤霉素 GA_3 对根系和茎粗生长具有抑制作用,因此,在广西金线莲的壮苗生根培养中不宜使用赤霉素 GA_3 。

表 3 GA₃ 对广西金线莲壮苗生根的影响

Table 3 Effects of different GA₃ concentration on the strong plant culture and root inducing of Anoectochilus roxburghii

Thio colo civilis rollo wil gilli					
浓度	株高	茎粗	节长	生根率	
GA ₃ concentration	Average height	Stem	Internode	Rooting	
(mg L ⁻¹)	of plant	Diameter	(cm)	rate	

	(cm)	(mm)		(%)
CK	6.6a	2.24	1.68a	100
0.2	9.4b	2.10	1.92b	34
0.5	9.7b	1.90	2.21b	30
1.0	10.6b	1.86	2.30b	15



图 2 添加赤霉素 GA3 培养广西金线莲壮苗生根生长的情况

Fig. 2 Cultivating strong seedling and inducing root in the medium with GA₃ of *Anoectochilus* roxburghii

2.4 生长素与细胞分裂素配比对广西金线莲壮苗生根的影响

从前述实验结果中得出,生长素 NAA 和细胞分裂 6-BA 对诱导广西金线莲壮苗生根培养具有较好效果,因此采用 4 种浓度的 6-BA 与 3 种浓度的 NAA 两两组合配比,以基准培养基作为对照(6-BA 0 mg L^{-1} +NAA 0 mg L^{-1}),共设计了 13 个不同配方的培养基(编号为 1~13),培养 90 d 后,各激素组合对生根率、根长、株高的影响结果见下表 4。

由表 4 可知,广西金线莲茎段接种到各培养基上都能诱导节或基部生根,生根率达到 100%;在根长方面,6 号培养基(激素配比为 6-BA $0.5~\mathrm{mg}~\mathrm{L}^{-1}$ 、NAA $1.0~\mathrm{mg}~\mathrm{L}^{-1}$)的平均根 长最长,可达 $3.17~\mathrm{cm}$,且根条数和根粗壮度也较好。在植株株高方面,各培养基上差异不明显,但粗壮度和植株色泽存在差异,其中 3、6、9 号培养基上植株叶片舒展,色泽较好,植株相对更加健壮。综合考虑,可以选择培养基 $1/2\mathrm{MS}$ +6-BA $0.5~\mathrm{mg}~\mathrm{L}^{-1}$ +NAA $1.0~\mathrm{mg}~\mathrm{L}^{-1}$ + 香蕉汁 $100~\mathrm{g}~\mathrm{L}^{-1}$ +AC $1.0~\mathrm{g}~\mathrm{L}^{-1}$ + 蔗糖 $20~\mathrm{g}~\mathrm{L}^{-1}$ 作为广西金线莲的适宜壮苗生根培养基。

表 4 6-BA 与 NAA 配比对广西金线莲壮苗生根的影响

Table 4 Effects of 6-BA and NAA combination on cultivating strong seedling and inducing root of Anoectochilus roxburghii

No.	Hormone combination	Average length	Average height of	Rooting rate
	6-BA+NAA	of root	plant	(%)
	$(mg L^{-1})$	(cm)	(cm)	
1	0+0	1.54a	7.57a	100
2	0.2+0.5	2.20a	7.72a	100
3	0.2+1.0	2.89b	7.47a	100
4	0.2+1.5	2.45b	6.03a	100
5	0.5+0.5	2.43b	7.12a	100
6	0.5+1.0	3.17b	8.23a	100
7	0.5+1.5	2.40b	7.38a	100
8	1.0+0.5	2.14a	8.25a	100
9	1.0+1.0	2.89b	7.46a	100
10	1.0+1.5	2.45b	6.03a	100
11	2.0+0.5	1.96a	7.46a	100
12	2.0+1.0	2.15a	7.73a	100
13	2.0+1.5	2.43b	7.57a	100

2.5 不同接种方式对广西金线莲壮苗生根的影响

在广西金线莲的组培快繁中,以茎段为接种材料进行壮苗生根培养,通常采用竖直接种和水平接种 2 种方式均可诱导植株和根系生长(表 5 和图 3),其中水平接种诱导的平均根条数为 5.6 条,显著高于竖直接种的 4.6 条(*P*<0.05),2 种方式的平均株高分别为 7.9 cm 和 8.2 cm,差异不显著(*P*>0.05)。由于水平接种方式在操作简便和节省时间方面好于竖直接种方式,因此,综合考虑植株生长和接种操作情况,在以茎段为接种材料进行广西金线莲工厂化繁育中,水平接种为壮苗生根培养适宜的接种方式。

表 5 不同接种方式对广西金线莲壮苗生根的影响
Table 5 Effects of different inoculation methods on cultivating strong seedling and inducing root of *Anaectochilus roxburghii*

of Anoectochitus roxotiffiti					
接种方式	根数	株高	生根率		
Inoculation method	Average root	Average height of plant	Rooting rate		
	number	(cm)	(%)		
水平接种	5.6a	7.00	100		
Inoculated horizontally	3.0a	7.9a 100	100		
竖直接种	4.6b	8.2a	100		
inoculated vertically	4.00	o.2a	100		



注: **A**.竖直接种培养 10 d; **B**.水平接种培养 60 d; **C**.竖直接种培养 90d 的单株苗; **D**.水平接种培养 90 d 的单株苗。

Note: **A.**Cultivating after 10 d of inoculated vertically; **B.**Cultivating after 60 d of inoculated horizontally; **C.**Cultivating after 90 d of inoculated vertically; **D.**Cultivating after 90 d of inoculated horizontally.

图 3 不同接种方式广西金线莲壮苗生根生长情况

Fig. 3 Cultivating strong seedling and inducing root in different inoculation methods of Anoectochilus roxburghii

3 讨论

在以往关于金线莲壮苗生根培养的报道中,通常以单株芽苗为接种材料,都存在茎杆较细弱、根系不发达的问题。如在福建金线莲(孟志霞等,2008)、海南金线莲(唐赛等,2015)、广东金线莲(胡位荣等,2017)生根培养中,均以具有顶芽和2~3个茎节的单株芽苗为材料进行生根培养,尽管诱导根系速度较快,但同时也诱导出了较多的细弱侧芽苗,导致植株叶片难以舒展生长,在有限营养培养基上,故植株不健壮,根系也不发达。本研究发现,选取粗壮茎段为接种材料在增加金线莲粗壮度方面更具优势,这可能是因为粗壮茎段较顶芽和单株芽苗发育程度不同,并且内源激素含量和比例也不同,尤其是活性内源激素含量不同。因此,通过诱导茎节腋芽原基和根原基萌发生长,每个茎段材料再生获得一株完整植株,植株更加健壮、齐整,根系更加发达。

大多数研究结果表明,植物激素是影响试管苗离体再生的主要因素,其中细胞分裂素是不定芽再生的关键激素,生长素是诱导不定根发生过程中根尖分生组织形成的关键要素。在本研究中,细胞分裂素与生长素配比对广西金线莲诱导壮苗生根起重要作用,这与以往生根培养侧重于诱导出根系而偏向于使用生长素不同,如王小敏等(2015)和王禹等(2017)在金线莲生根培养中均仅使用生长素 IBA 或 NAA,尽管也能够获得较高的生根率,但根系不发达,壮苗效果也不理想。推测金线莲不定根再生过程同样需要细胞分裂素的极性运输,以解决离体材料不定芽多代繁育后复壮能力下降的问题。也进一步表明,生长素与细胞分裂素

共同协同作用,一方面能诱导腋芽和根系的快速萌发,缩短腋芽原基和根原基的启动周期, 另一方面可促进腋芽和根系协同生长,使获得的植株健壮、齐整。

本研究发现,在广西金线莲的壮苗生根培养阶段,以粗壮茎段为接种材料,接种方式也是影响试管苗离体再生的关键之一。我们采用水平接种方式,一方面诱导出的根系条数更多,这可能是由于接种材料的水平放置,在一定程度上增加了接种材料与培养基的接触面积,接种材料对营养元素有了更好的吸受,促进了根系的生长。另一方面,水平接种方式在接种操作时,不需要区分接种材料的上下端顺序,只需要将材料平放在培养基上,因此在接种操作方面更加简便、省时,在开展规模化繁育时更具优势,对生产具有重要指导意义。

参考文献:

- CHEN Y, LIN KR, GUAN QK, et al, 1994. Biological characteristics and habitat characters of *Anoectochilus roxburghii* [J]. Subtrop Plant Res Comm, 23(1): 18-24. [陈裕, 林坤瑞, 管其宽, 等, 1994. 金线莲生物学特性及生境特点的研究[J]. 亚热带植物通讯, 23(1): 18-24.]
- FU CM, XIAN KH, SU J, et al, 2018. Species source characteristics and influence factors of aseptic sowing germination of Guangxi *Anoectochilus roxburghii* [J]. Mole Plant Breed, 16 (12): 4016-4022. [付传明,冼康华,苏江,等, 2018. 广西金线莲种源特性及无菌播种萌发的影响因素[J]. 分子植物育种, 16 (12): 4016-4022.]
- HAN XH, WANG CL, DUAN CH, 2012. Effects of different hormone levels on tissue culture of *Anoectochilus roxburghii*[J]. Guangdong Agric Sci, 18:94-97. [韩晓红,王春龙,段春红,2012. 不同激素水平对金线莲组织培养的影响[J]. 广东农业科学, 18: 94-97.]
- HU WR, LI CR, WEN SH, et al, 2017. Study on the rapid propagation in vitro of wild *Anoectochilus roxburghii* from hakka region[J]. J Guangdong Univ Ed, 37(5): 70-75. [胡位荣,李纯荣,温水鸿,等, 2017. 客家地区 野生金线莲离体快速繁育的研究[J]. 广东第二师范学院学报, 37(5):70-75.]
- KONG XH, 2001. Preliminary study on natural resources of *Anoectochilus roxburghii*[J]. Chin Trad Herb Drugs, 32(2): 155-157. [孔祥海, 2001. 药王金线莲的自然资源初步研究[J]. 中草药, 32(2): 155-157.]
- LUO XQ, WU KM, CHA LS, et al, 2011. Research status and development tendency of *Anoectochilus*[J]. tGuizhou Agric Sci, 39(3): 71 -74. [罗晓青, 吴明开, 查兰松, 等, 2011. 珍稀药用植物金线莲研究现状与发展趋势[J]. 贵州农业科学, 39(3): 71-74.]
- MENG ZX, GUO SX, YU XM, et al, 2008. Effect of plant growth regulator on proliferation of axillary buds of *Anoectochilus roxburghii*[J]. Chin Pharm J,43(23): 1777-1780. [孟志霞, 郭顺星, 于雪梅, 等, 2008. 植物生长调节剂对福建金线莲丛生芽增殖的影响[J]. 中国药学杂志, 43(23): 1777-1780.]
- TANG S, JANG DQ, ZHAO MY, et al, 2015. Studies on shoot multiplication and rooting during *in vitro* propagation of Hainan *Anoectochilus roxburghii*[J]. Chin Hortic Abstracts, (12): 9-10,41. [黄寨, 姜殿强, 赵明苑, 等, 2015. 海南金线莲的增殖与生根培养研究[J]. 中国园艺文摘, (12): 9-10, 41.]

- WANG LF, 2011. Effect of different media and additives on the growth of the *Anoectochilus roxburghii*[J]. N Hortic, (5): 175-176. [王丽芳, 2011. 不同培养基及添加物对金线莲生长量的影响[J]. 北方园艺, (5): 175-176.]
- WANG XM, HUANG ZY, MO ZZ, et al, 2014. The multiplication and rooting of *Anoectochilus Roxburghii* multiple shoot[J]. J Yulin Norm Univ (Nat Sci Ed), 35(5):54-58. [王小敏,黄肇宇,莫昭展,等, 2014. 金线 莲丛生芽的增殖和壮苗生根[J]. 玉林师范学院学报(自然科学版), 35(5): 54-58.]
- WANG YJ, LIN RY, YANG ZG, et al, 2005. Rapid Propagation of *Anoectochilus roxburghii*[J]. Subtrop Plant Sci, 34(3):40-42. [王雅英, 林荣耀, 杨忠耿, 等, 2005. 金线莲快速繁殖及促根壮苗试验[J]. 亚热带植物科学, 34(3):40-42.]
- WANG Y, YU F, TAN W, et al, 2017. The establishment of rapid propagation system of *Anoectochilus Roxburghii* [J]. For Product Special China, (6): 45-46. [王禹,于非,谭巍,等, 2017. 金线莲快繁体系的建立[J]. 中国林副特产, (6): 45-46.]
- ZHONG CS, 1997. Medicinal value and development of *Anoectochilus roxburghii* [J]. Guangxi Agric Sci, (2): 51-53. [钟岑生, 1997. 金线莲的药用价值与开发[J]. 广西农业科学, (2): 51-53.]